Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. F. Hoff.

Experimentelle Untersuchungen über die Erythrocytenregulation

Inaugural-Dissertation

verfaßt und

der Hohen Medizinischen Fakultät
der Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Kurt Böhm
aus Eisenberg i. Thür.

Würzburg
C. J. Becker Universitäts-Druckerei
1939

Berichterstatter: Prof. Dr. F. Hoff

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Das rote Blutbild zeigt unter normalen Verhältnissen eine auffallende durch eine sinnvolle Steuerung gewährleistete Konstanz seiner Zusammensetzung. Wie bei den meisten vegetativen Regulationen spielen auch hier hormonale und nervöse Faktoren zusammen. Nach Untersuchungen von Istomanowa und Chudoreschewa ist es wahrscheinlich, daß als hormonalem Faktor für die Erythrocytenregulation dem Adrenalin gewisse Bedeutung zukommt. Diesen Forschern gelang es, durch Adrenalininjektionen im Tierversuch einen Anstieg der Erythrocyten und des Hämoglobins hervorzurufen. Klinische Beobachtungen von Günther, Guillian, Georges, P. Lechelle, Raymond Garcin, Lichtwitz und Morawitz an Kranken mit Störungen im Bereich der Hypophyse und deren Umgebung bei gleichzeitig vorhandener Polyglobulie sprechen für eine zentralnervöse Regulation der Erythropoese. Experimentell konnte Heilmeyer die Abhängigkeit des roten Blutbildes von regulierenden Zentren zeigen. Es gelang ihm, beim Kaninchen durch Stich ins Zwischenhirn einen Anstieg der vitalgranulierten Erythrocyten hervorzurufen. Aus weiteren Untersuchungen von Ginzberg und Heilmeyer geht hervor, daß es in den Stammganglien bzw. im Zwischenhirn nicht nur für das weiße Blutbild, wie wir das durch Untersuchungen von Hoff, Rosenow u. a. wissen, sondern auch für das rote Blutbild Regulationsmechanismen geben muß. In den letzten Jahren haben nun besonders japanische Forscher weitere Beweise für die nervöse Regulation des roten Blutbildes erbracht. So konnte Hayashida zeigen, daß die durch verdünnte Luft in der Unterdruckkammer bei Tieren auslösbare Polyglobulis nach Durchschneidung des Halsmarkes nicht mehr auftritt. Dieser Befund spricht mit großer Wahrscheinlichkeit für eine zentralnervöse Abhängigkeit der Erythrocytenregulation. Hayashida hat es auch unternommen, die Zentren für die Blutregulation genauer zu lokalisieren. Er fand bei seinen Versuchen, daß nur Einstiche in der Gegend des Tuber cinereum Anstiege sowohl der Leukocyten als auch der Erythrocyten herbeiführten. Manchmal reagierten die beiden Anteile des Blutes gleichartig, manchmal unabhängig voneinander. Einstiche in andere Hirnteile führten keine verwertbaren Blutveränderungen herbei. Nach diesen Befunden ist demnach auch für das rote Blutbild ein im Hirn gelegenes Zentrum für die Regulation als experimentell gesichert anzusehen. Der zentralnervöse

Reiz verläuft nach Untersuchungen von Hayashida und Nasu von den blutregulierenden Zentren im Zwischenhirn auf Nervenbahnen über Medulla oblongata und Halsmark zu dem Brust- und Lendenmark, um von hier aus über die spinalen Nerven in gesetzmäßiger Anordnung zu den Bildungsstätten der Blutkörperchen weitergeleitet zu werden.

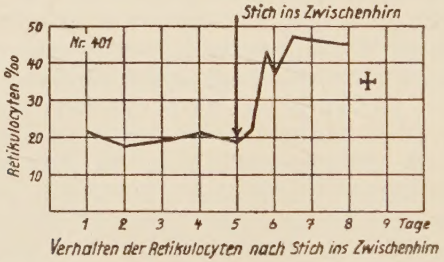
Nachdem von Beer für die Leukopoese außer dem zentralnervös ausgelösten Reiz die Beteiligung humoraler Stoffe an der Regulation nachgewiesen werden konnte, liegt es nahe, auch für die Erythropoese ähnliche Verhältnisse anzunehmen. Wir stellen uns nun vor, daß auch bei der Regulation des roten Blutbildes humorale körpereigene Stoffe in den Mechanismus des Ablaufes eingeschaltet sind, und daß es sich bei der Regulation der Erythropoese vielleicht um eine kombinierte nervös-humorale Steuerung handelt. Um diesen vermutlichen humoralen Anteil nachzuweisen, haben wir auf eine Anregung von Prof. Hoff hin in der vorliegenden Arbeit den Regulationsmechanismus der Erythropoese näher untersucht.

Für Untersuchungen über die Regulation des roten Blutbildes sind Hämoglobinwert und Erythrocytenzahlen im Zusammenhang mit unserer Fragestellung allein nicht zu gebrauchen. Diese Werte sind viel zu sehr unkontrollierbaren Schwankungen ausgesetzt, als daß sie zur Grundlage für Versuche solcher feinen biologischen Vorgänge dienen könnten. Wir wissen dagegen schon länger, daß es Erythrocyten gibt, die die sog. Substantia reticulo-filamentosa besitzen. Diese tritt bald als Netz oder Knäuel, bald als Fädchen oder Körnchen über den Erythrocyten ausgebreitet auf. Zuerst gesehen und beschrieben wurde die Substantia reticulo-filamentosa von Ehrlich (1880). In der folgenden Zeit haben sich zahlreiche Forscher mit der Natur und dem Charakter dieser Substantia reticulo-filamentosa beschäftigt. Heute ist nach den Forschungen von Cesaris Demel und Schilling allgemein anerkannt, daß die Substantia reticulo-filamentosa als ein Kennzeichen der jugendlichen Erythrocyten und Erythroblasten sowohl im peripheren Blut wie im Knochenmark aufzufassen ist. Viele Arbeiten der folgenden Zeit haben nun gezeigt, daß das Verhalten der Retikulocyten eines der sichersten und frühesten Zeichen der Störung im erythropoetischen System ist. Demnach sind die vitalgranulierten Erythrocyten für Untersuchungen über die Frage der Regulation des roten Blutbildes ohne Zweifel die geeignetsten Blutzellen, zumal sich aus ihrem Verhalten feine quantitative Beurteilungen biologischer Vorgänge ableiten lassen. Wir haben daher unseren Untersuchungen über die Erythrocytenregulation das Studium des Verhaltens der vitalgranulierten Erythrocyten zugrunde gelegt.

Zur Technik des Verfahrens der Retikulocytenzählung: Die Vitalgranulierten wurden nach der „feuchten Kammermethode“ von Schilling gefärbt. Längere Zeit in absolutem Alkohol aufbewahrte, tadellos entfettete und gereinigte Objektträger werden mit 1%iger alkoholischer Brillantkresylblaulösung gleichmäßig in nicht zu dünner oder zu dicker Schicht bestrichen. Die Lösung muß in feiner grauvioletter homogener Schicht antrocknen. Hierauf streicht man über die Farbschicht einen Blutstropfen aus. Der Objektträger kommt nunmehr auf 10 Minuten in eine mit feuchtem Fließpapier ausgelegte Petri-Schale. Ist das Präparat dann nach Herausnahme aus der Petri-Schale lufttrocken, so kann man es untersuchen. Zur Herstellung von Dauerpräparaten kann man fixieren und dann nach Giemsa nachfärben. Die Vitalgranulierten wurden auf 2000 Erythrocyten ausgezählt und auf pro Mille berechnet. Im allgemeinen teilt man nach Heilmeyer die Retikulocyten je nach ihrem Reifungsgrad in 5 Gruppen ein. Man kann dann hier ebenso wie bei den Leukocyten von einer Linksverschiebung der Retikulocyten sprechen, wenn unreifere Formen von ihnen im strömenden Blute auftreten. Unter normalen Bedingungen fehlen im Blut die unreifsten Formen. Es sind dies kernhaltige Rote mit einem dichten Netzwerk von Substantia retikulo-filamentosa und kernlose Erythrocyten, bei denen die Substantia retikulofilamentosa einen dichten Knäuel bildet. Der nächste Reifungsgrad, Erythrocyten mit netzförmig angeordneter Substantia retikulo-filamentosa, findet sich im strömenden Blut nur in geringer Anzahl. Die Hauptmasse der im Blut befindlichen Vitalgranulierten sind Erythrocyten, die die Substantia retikulo-filamentosa in unvollständiger Netzform oder als Fädchen und Körnchen angeordnet zeigen. Um eine evtl. auftretende Linksverschiebung bei unseren Versuchen mit zu beobachten, haben wir abweichend von der üblichen Einteilung die Vitalgranulierten nur in 2 Gruppen aufgeteilt, da uns dies für unsere Zwecke als ausreichend erschien. Unsere Gruppe I umfaßt die Netz- und Knäuelformen, unsere Gruppe II die unvollständigen Netz- und Fadenformen und die Körnchenformen.

Als Versuchstiere benutzten wir Kaninchen. Zunächst untersuchten wir bei unseren Versuchstieren in täglich vorgenommener Auszählung von Blutausstrichen über längere Zeit das Verhalten der Retikulocytenzahlen. Es zeigte sich, daß diese als konstant anzusehen sind. Die gefundenen Schwankungen lagen stets im Bereich des Physiologischen. Unsere Durchschnittswerte zeigen eine befriedigende Übereinstimmung mit den von Istomanowa angegebenen. Auch bei der Kontrolle der tageszeitlichen Schwankungen fanden sich nur physiologische Schwankungen.

Nachdem wir das physiologische Verhalten der Retikulocyten beim normalen Kaninchen festgestellt hatten, gingen wir dazu über, das Verhalten auf zentrale Reize hin zu untersuchen. Anfangs benutzten wir bei unseren Versuchen zur Auslösung zentraler Reize den Hirnstich in die Gegend des Corpus striatum. Wir eröffneten dabei den Schädel der Versuchstiere durch eine kreisförmige Trepanöffnung etwas seitlich von der Mittellinie oberhalb der Coronarnaht, die als vordere Begrenzung in die Öffnung einbezogen wurde. Nach Spaltung der Dura stachen wir mit einer Sonde senkrecht unter bohrenden Bewegungen bis auf die Schädelbasis durch das Hirn durch. Die Schädelwunde wurde darauf wieder verschlossen. Wir konnten bei diesen Versuchen die Befunde Heilmeyers bestätigen. Die folgende Abbildung zeigt eine der bei



Verhalten der Retikulocyten nach Stich ins Zwischenhirn

Abb. 1.

diesen Versuchen mit Hirnstich gewonnenen Kurven über das Verhalten der Retikulocyten.

Bei weiteren Versuchen haben wir als zentralnervösen Reiz die Luftfüllung der Hirnventrikel mittels Occipitalpunktion benutzt. Diese übt, wie wir aus den Untersuchungen Hoffs wissen, einen Reiz auf die vegetativen Zentren des Zwischenhirns aus. Wir fanden bei diesen Versuchen einen verwertbaren Anstieg der Retikulocyten, wie er auch schon von Hoff beschrieben wurde. Von da an haben wir bei allen unseren weiteren Versuchen nur noch dieses für die Versuchstiere viel schonendere Verfahren zur Auslösung eines zentralen Reizes angewandt. Der Ausfall eines dieser Experimente sei an Hand eines Protokollauszuges etwas ausführlicher geschildert:

Versuchstier 406: Die Retikulocytenzahlen zeigen über längere Zeit beobachtet gleichbleibende Werte. Bei dem Tier wird die Luftfüllung der Hirnventrikel gemacht. Austausch von 1,0 ccm völlig klaren Liquors gegen 1,4 ccm Luft. Das Tier ist nach dem Eingriff etwas benommen und schläfrig. Es zeigt aber keinerlei

Lähmungserscheinungen und erholt sich nach etwa 1 Stunde wieder vollkommen. 3 Stunden nach der Luftfüllung der Ventrikel ist ein deutlicher Anstieg der Vitalgranulierten festzustellen. Nach 6 und 9 Stunden hält dieser Wert noch immer an, um nach 24 Stunden

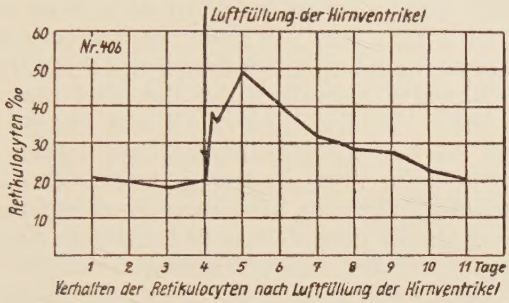


Abb. 2.

seinen Höchstwert von 49 pro Mille zu erreichen. Die Vitalgranulierten werden nunmehr täglich kontrolliert. Im Verlauf von 7 Tagen gehen die Werte allmählich auf den Ausgangswert zurück. Die folgenden Kurven zeigen die bei dem angeführten Versuchstier gefundenen Verhältnisse. Ähnliche Kurven fanden sich bei einer

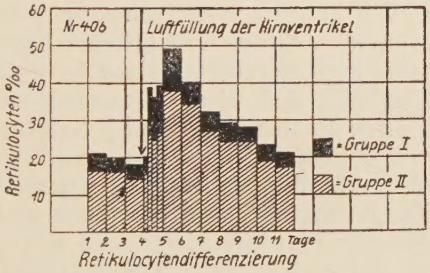


Abb. 3.

weiteren Anzahl Versuchstieren. Im ganzen ergibt sich, daß bald nach dem zentral ausgelösten Reiz, im allgemeinen zwischen der 3. bis 6. Stunde ein Anstieg der Vitalgranulierten einsetzt. Der Höchstwert wird zwischen 10 und 36 Stunden erreicht. Dann erfolgt langsam ein Abfall der Retikulocytenwerte innerhalb von 5 bis 7 Tagen. Das differenzierte rote Blutbild ergibt, daß in den ersten 24 Stunden nach dem zentralen Reiz hauptsächlich eine Ausschwemmung von Zellen unserer Gruppe I erfolgt, so daß

innerhalb der Retikulocyten eine Linksverschiebung auftritt. In der nächsten Zeit geht diese Linksverschiebung aber schnell wieder zu Gunsten der Zellen unserer Gruppe II zurück. —

Zu den Untersuchungen über die von uns vermutete Mitwirkung eines humoralen Anteils in dem Regulationsmechanismus des roten Blutbildes haben wir die auch von B e e r bei seinen Untersuchungen über die Leukocytenregulation benutzte Versuchsanordnung zweier in Parabiose lebender Kaninchen benutzt. Bei dieser Parabioseform, die erstmals von S a u e r b r u c h und H e y d e angegeben wurde, werden die Leibeshöhlen beider Parabionten operativ vereinigt und zur völligen Verwachsung gebracht. Zum Beweis einer kombiniert nervös-humoralen Steuerung erscheint uns diese Versuchsanordnung als die geeignetste, da es infolge der Eigenart der Operation möglich ist, mit ihr die Wirkung evtl. auftretender humoraler Stoffe nachzuweisen, ohne dabei mit der Wirkung unspezifischer Reize rechnen zu müssen.

Voraussetzungen für Versuche an Parabiosepaaren.

Eine eigentlich selbstverständliche Voraussetzung ist, daß zu den Versuchen nur einwandfreie Parabiosepaare herangezogen werden. Der körperliche Zustand der Tierpaare darf auch durch keinerlei Erkrankungen der Atmungs- und Verdauungsorgane beeinträchtigt sein. Wir haben solche Paare, bei denen Störungen in diesem Sinne vorlagen, von den Versuchen ausgeschlossen.

Unsere Tierpaare sind nervös voneinander getrennt. Als Voraussetzung fordern wir, daß diese Trennung eine vollkommene sein muß. Nach allen in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen haben wir bisher keine Anhaltspunkte dafür gefunden, daß sich nervöse Verbindungen zwischen den Parabionten ausbilden. Die Heilungsvorgänge an den Parabiosebrücken verlaufen nach den Gesetzen der Transplantation und so ist überhaupt auch nicht zu erwarten, daß sich nervöse Verbindungen ausbilden. Humoral sind die beiden Parabionten in genügend großem Maße miteinander verbunden. Größere Gefäßanastomosen konnten wir trotz zahlreicher Untersuchungen nicht feststellen. Diese Voraussetzung unserer Versuchsanordnung ist insofern wichtig, als es immerhin möglich sein könnte, daß bei vorhandenen Gefäßanastomosen auf diesem Wege größere Blutzellenverschiebungen von einem Tier zum anderen stattfinden. Wäre diese der Fall, so wären die Ergebnisse der Retikulocytenbewegungen nicht in unserem Sinne einer Beeinflussung durch evtl. humorale Faktoren zu verwerten. Die in der Parabiosebrücke sich entwickelnden Verbindungen der

beiden Gefäßsysteme sind ausschließlich kapilläre Anastomosen. Um uns über deren Bedeutung für einen möglichen Austausch von Blut eine Vorstellung zu machen, haben wir bei einigen Tierpaaren Versuche mit Thorotrast gemacht. Spritzt man einem normalen Kaninchen intravenös 2 ccm Thorotrast pro Kilo Körpergewicht, so bekommt man schon nach kurzer Zeit auf der Röntgenaufnahme einen dichten Schatten der Leber und Milz. Wir haben nun einem unserer Partner 8—10 ccm Thorotrast pro Kilo Körpergewicht intravenös eingespritzt. Selbst nach 12 Stunden, zu einem Zeitpunkt, an dem nach Untersuchungen von Randheart und Schlesinger angenommen werden kann, daß noch immer beträchtliche Mengen des eingespritzten Thorotrastes in der Blutbahn kreisen, konnten wir bei dem unbehandelten Partner keine röntgenologische Darstellung der Leber und Milz erhalten. Damit ist auch der Beweis erbracht, daß den kapillären Anastomosen für einen evtl. Blutaustausch zwischen den beiden Partnern keinerlei Bedeutung zukommt. Es bleibt also ausschließlich der humorale Weg über die Verbindung der beiden Bauchhöhlen und über die Parabiosebrücke für eine Beeinflussung der beiden Tiere aufeinander übrig.

Operationsmethode und allgemeine Beobachtungen an den Parabiosetieren.

Unsere Operationstechnik deckt sich im wesentlichen mit der von Sauerbruch und Heyde beschriebenen Coeleoanastomose. Zur Operation kamen stets zwei gleichgroße gleichgeschlechtliche und aus dem selben Wurf stammende Kaninchen. Das Alter der Tiere schwankte zwischen 2—5 Monaten. Nach schonendster Enthaarung der entsprechenden Flankenseiten beider Tiere wurden diese auf dem Operationsbrett so gelagert, daß die enthaarten Flächen dicht aneinander lagen. Zur Narkose wurde Pernocton intravenös gegebenen und zur völligen Entspannung und zur Vertiefung der Wirkung noch etwas Äther. Nach einmaligem Jodanstrich der enthaarten Flächen wurde nun bei beiden Tieren durch einen etwa 10—12 cm langen Schnitt die Haut bis auf die Fascie gespalten. Der Schnitt verläuft in der Höhe des unteren Rippenbogens beginnend etwa 1 cm oberhalb der Mamillarlinie. Die Haut wurde darauf von der Unterlage etwas mobilisiert, Muskulatur und Peritoneum an symmetrischen Stellen durchschnitten und durch Haltefäden entsprechend aneinander fixiert. Die Eröffnung der Bauchhöhle erfolgte stets in einer Ausdehnung von 8—10 cm. In fortlaufender Catgutnaht wurden nun die Peritonealränder zuerst unten, dann oben miteinander vereinigt. Auf

diese Art wurde die Kommunikation beider Leibeshöhlen hergestellt. Hierauf erfolgte die Aneinanderlegung der Muskulatur über der Peritonealnaht durch einige Kopfnähte und anschließend die obere Hautnaht. Nach Umwenden der Tiere um 180° wurde die Muskulatur an der Unterseite ebenfalls durch einige Knopfnähte aneinander gelegt und die Haut dann mit Klammern verschlossen. Wir benutzten als Operationsbrett das von Beer angegebene. Bei diesem ist das eigentliche Operationsbrett von einem festen Rahmen umgeben, der ein rasches Umwenden der Tiere ohne Abschnallen ermöglicht. Die operativ geschaffene Vereinigungsstelle wurde nach Jodieren mit einem leichten trockenen Gazeverband bedeckt. Durch schmale Mullbinden, die in Achtertouren vor und hinter der Parabiosebrücke angelegt wurden, wurden die Tiere derart aneinander fixiert, daß die Beweglichkeit der Extremitäten nicht behindert wurde. Dieses Verfahren hat sich uns ausgezeichnet bewährt.

Schon 10—12 Stunden nach der Operation läßt sich über den Erfolg etwas aussagen, sofern man von den noch auftretenden Komplikationen der Wundheilung absieht. Sind zu diesem Zeitpunkt die Tiere wieder bewegungsfreudig und freßlustig und sind Stuhl und Urinabgang normal, so kann man mit einer erfolgreichen Vereinigung rechnen. Haben sich beide Tiere oder auch nur ein Partner der Parabiose um diese Zeit von der Operation noch nicht recht erholt, so trat meist nach zwei bis vier Tagen der Tod des einen oder beider Parabionten ein. In diesen Fällen fanden sich bei der Sektion meist mehr oder minder ausgedehnte peritonitische Veränderungen bei sonst normaler Wundheilung. Es dürfte sich bei diesen Fällen um Folgen der Operation handeln, zumal ihre Zahl mit steigender Operationserfahrung abnahm. Einwandfrei vereinigte und verbundene Tiere nahmen sofort nach Abklingen der Narkose ihre normale Hockstellung ein und begannen schon frühzeitig umherzuhüpfen. In der Regel überstanden die jüngeren 2—3 Monate alten Tiere die Operation besser als die älteren. Dabei war der Verlauf der Wundheilung kein schnellerer oder besserer im Vergleich zu dem der älteren Tiere. Im allgemeinen gewöhnten sich die Tiere bald an den durch die Vereinigung erzwungenen Zustand. Wir beobachteten zwar immer wieder, daß es zu Unstimmigkeiten der Bewegungsäußerungen der Einzeltiere kommt, die zum Übereinandersteigen oder zum Verdrehen der Tiere führten. Von entscheidender Bedeutung für das Verhalten der Tiere waren nach unseren Beobachtungen Lage und Größe der Anastomose und vor allem auch der Verband. Waren die Schnitte zu groß bzw. zu weit nach hinten geführt, so behinderten sie die Hüftgelenke ebenso wie ein ungeeignet angelegter Verband. Die

Tiere wurden auf diese Weise gehindert, ihre normale Hockstellung einzunehmen. Die ihnen derart aufgezwungenen Zwangshaltungen der Extremitäten schließen eine genügende Bewegung von vornherein aus. Die an und für sich nicht ganz leichte Reinhaltung der Parabionten wurde unter solchen Umständen ganz besonders erschwert. Solche Tiere bekamen durch dauerndes Einnässen Ekzeme, Entzündungen in der Gegend des Anus und an der hinteren Extremität und gerieten bald in einen so schlechten Zustand, daß sie für irgendwelche Versuche nicht mehr zu gebrauchen waren. Bei komplikationsloser Wundheilung waren in der Regel die Wundränder nach 12—14 Tagen fest verheilt. Insgesamt haben wir 64 Kaninchen zur Parabiose gebracht. Trotz der Schwierigkeiten in der Pflege und Haltung der operierten Tiere gelang es uns, 8 Paare zur völlig reaktionslosen Verwachsung zu bringen und sie über 4—8 Wochen am Leben zu erhalten. Bei anderen Versuchen haben wir Parabiosepaare sogar über 12 Wochen am Leben erhalten können.

Das Verhalten des roten Blutbildes bei unseren Parabiosen.

Bei allen unseren Parabiosen haben wir sowohl vor als auch nach der Operation das Verhalten des roten Blutbildes in fortlaufenden meist täglich vorgenommenen Untersuchungen kontrolliert. Wir haben jedesmal Hämoglobin, Erythrocyten und Retikulocyten jedes Einzeltieres bestimmt. Dabei konnten wir feststellen, daß in den ersten 8—10 Tagen nach der Operation bei allen zur Vereinigung gebrachten Tieren eine sekundäre Anaemie auftrat. Die Abnahme der Erythrocyten und des Hämoglobins betrug 10—40% der Werte vor der Operation. Stets ging dieser Abnahme der Erythrocyten bei den beobachteten Tieren ein Anstieg der Retikulocyten parallel. Bei den einzelnen Partnern bestanden in allen Fällen Unterschiede hinsichtlich der Größe der Anaemie. Gesetzmäßigkeiten über die Größe der für jedes Einzeltier zu erwartenden sekundären Anaemie konnten wir selbst bei Berücksichtigung der voroperativen Blutwerte nicht feststellen. Nach Ablauf der ersten 8—10 Tage trat bei einem Teil der Tierpaare eine langsame Zunahme des Hämoglobins und der Erythrocytenwerte ein. Nie erreichten die Tiere aber mehr ganz ihre Ausgangsblutwerte. Selbst nach wochenlangem Zusammenleben in ungestörter Parabiose war immer noch bei beiden Partnern eine geringe Anaemie gegenüber dem Ausgangsblutwert festzustellen. Die restlichen Paare zeigten entweder längere Zeit einen stationären Zustand oder eine fortschreitende Anaemie mit entsprechender Zunahme

der Retikulocyten. Bei einem Paare fanden wir eine ausgesprochen starke und sich schnell ausbildende Anaemie. Am 6. Tage nach der Operation waren bei diesen Tieren die Hämoglobinwerte von 71% auf 40% bzw. von 71% auf 25% abgesunken. Die Erythrocytenzahlen waren in der gleichen Zeit von 5,0 Mill. auf 2,8 Mill. bzw. von 5,48 Mill. auf 2,72 Mill. gefallen während die Retikulocyten von 17‰ auf 407‰ bzw. 20‰ auf 516‰ emporschnellten.

Bei diesen Blutbefunden haben wir daran gedacht, daß evtl. Blutparasiten für diese Anaemien verantwortlich sein könnten. Wir haben daher bei allen Tierpaaren, bei denen eine zunehmende Anaemie bestand, das Blut auf Blutparasiten hin untersucht, besonders auch auf die bei anderen Nagetieren vorkommende Bartonellenerkrankung. In keinem Falle gelang es uns, irgend welchen Anhaltspunkt für das Vorhandensein von Blutparasiten zu finden. Und doch ist vielleicht irgend eine infektiöse Ursache anzunehmen. Es gelang uns nämlich in Fällen mit ausgesprochener Anaemie durch intravenöse Injektionen von 100—150 mg Salvarsan pro Tier eine rasche Besserung herbeizuführen. So konnten wir z. B. in dem im Vorhergehenden mitgeteilten Fall einer ausgesprochenen Anaemie durch die Salvarsangabe die Werte nach 4 Tagen bei dem einen Tier von 40% Hämoglobin auf 54% und die Erythrocyten von 2,8 Mill. auf 3,44 Mill. ansteigen sehen. Die entsprechenden Werte für das andere Tier waren 25% Hämoglobin zu 60% und 2,72 Mill. Erythrocyten zu 3,68 Mill. Nach weiteren 4 Tagen waren die Werte noch etwas angestiegen. Sie betrugen jetzt für den einen Partner 58% Hämoglobin und 4,16 Mill. Erythrocyten und für den zweiten Partner 65% Hämoglobin und 4,5 Mill. Erythrocyten. In einer Reihe weiterer Fälle mit nicht so ausgesprochener Anaemie war die Besserung nicht so eindrucksvoll aber durchaus doch eindeutig.

Die Tierpaare, die nur die eingangs beschriebene geringe postoperative sekundäre Anaemie zeigten und bei denen nach 8—10 Tagen ein langsames Ansteigen ihrer Blutwerte einsetzte, erreichten gewöhnlich im Verlauf der dritten Woche ein konstantes rotes Blutbild. Bei diesem Blutbild waren die Retikulocyten gegenüber dem Ausgangswert immer etwas höher entsprechend der geringen Anaemie.

Versuche über die Mitwirkung humoraler Faktoren bei der Erythrocytenregulation.

Nur Tiere, die den eingangs gestellten Voraussetzungen entsprachen, wurden zu diesen Versuchen herangezogen. Durch tägliche Untersuchungen hatten wir vorher festgestellt, daß sich die

Vitalgranulierten vor Versuchsbeginn auf feste Werte eingestellt hatten. Als zentralnervösen Reiz wandten wir wiederum die Luftfüllung der Hirnventrikel nach Occipitalpunktion an. Über den Verlauf und die Ergebnisse der Versuche berichten wir am besten an Hand der Versuchsprotokolle.

Parabiose 456/457:

Vorgeschichte: 6. 10. 38. Operative Vereinigung (Coeleoanastomose) zweier etwa 15 Wochen alter kräftiger weiblicher Kaninchen aus gleichem Wurfe. Tier 456: Hb. 81%, Ery.: 5,5 Mill., Ret.: 21‰. Tier 457: Hb.: 78%, Ery.: 5,32 Mill., Ret.: 17‰. Glatter Heilungsverlauf. Völlig primäre Wundheilung in der Folge-

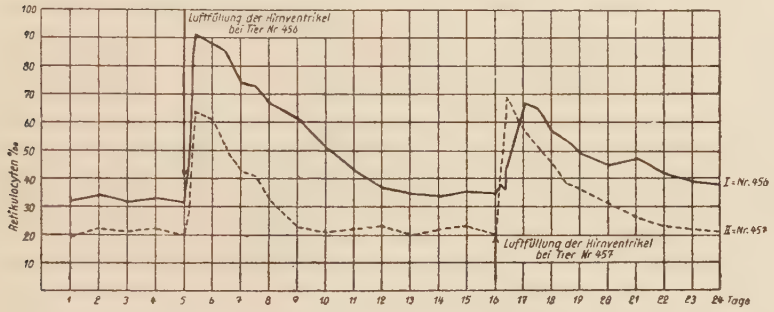


Abb. 4.

zeit. Nach 14 Tagen fest verheilte äußere Hautnarbe. Die Tiere zeigen normale Freßlust bei entsprechender Beweglichkeit. Bei keinem der Tiere bestehen irgendwelche entzündlichen Hautveränderungen. Am 20. Tage nach der Operation erreichen die Retikulocyten wieder feste Werte. Tier 456: Hb.: 53%, Ery.: 4,1 Mill., Ret.: 31‰. Tier 457: Hb.: 65%, Ery.: 4,6 Mill., Ret.: 21‰. Die Werte bleiben in den nächsten 8 Tagen innerhalb der physiologischen Schwankungen konstant. Versuchsbeginn: 30. 10. 38. Tier 456: Hb.: 46%, Ery.: 3,9 Mill., Ret.: 31,5‰. Tier 457: Hb.: 69%, Ery.: 4,72 Mill., Ret.: 19‰. Am 2., 3. und 4. Versuchstage zeigen die Retikulocyten die üblichen geringen Schwankungen. Am 5. Versuchstage Luftfüllung der Hirnventrikel bei Tier 456. Austausch von 1,2 ccm klaren Liquors gegen 1,7 ccm Luft. Das Tier ist etwa 2 Stunden lang benommen und schläfrig. Es zeigt aber keinerlei Lähmungserscheinungen und erholt sich nach dieser Zeit wieder vollkommen. An diesem Versuchstag haben wir 3 mal in 3 stündigem Abstand die Vitalgranulierten bestimmt. Bei dem zentralgereizten Tier beginnt nach 3 Stunden der Reti-

kulocytenanstieg. Er erreicht nach 9 Stunden den Wert von 91‰ (Kurve I). Aber auch beim unbehandelten Partner erfolgt ein Anstieg, der nach 9 Stunden den Wert von 63‰ erreicht (Kurve II). An den beiden nächsten Versuchstagen haben wir die Vitalgranulierten 2 mal täglich bestimmt, an den folgenden Tagen dann nur einmal täglich. Bei dem zentralgereizten Tier erfolgt ein allmählicher Abfall der Retikulocyten. Der nicht gereizte Partner reagiert mit einem etwas schnelleren Abfall. Er erreicht nach 4 Tagen wieder annähernd seinen Ausgangspunkt. Die Vitalgranulierten des gereizten Tieres zeigen erst 7 Tage nach der zentralnervösen Reizung wieder annähernd den Wert wie zu Beginn des Versuches.

Mit diesem Paar haben wir sofort anschließend einen Gegenversuch unternommen (2. Teil der Kurve). In diesem Versuch haben wir bei dem bisher unbehandelten Partner den zentralnervösen Reiz gesetzt (Kurve II).

Protokollauszug: Parabiose 456/457. 38 Tage altes ungestört verheiltes Parabiosepaar.

1. Versuchstag: 14. 11. 38. Blutwerte der Einzeltiere: Tier 456: Hb.: 49%, Ery.: 3,82 Mill., Ret.: 35‰. Tier 457: Hb.: 62%, Ery.: 3, 96 Mill., Ret.: 20‰. Luftfüllung der Hirnventrikel nach Occipitalstich bei Tier 457. Austausch von 1,4 ccm klaren Liquors gegen 1,8 ccm Luft. Das Tier ist etwa 1½ Stunden lang benommen und schläfrig, zeigt aber keinerlei Lähmungserscheinungen und erholt sich nach dieser Zeit wieder vollkommen. An diesem Versuchstage werden die Retikulocyten 3 mal in 3 stündigem Abstand bestimmt. Sie steigen bei dem zentralnervös gereizten Tier von 20‰ nach 9 Stunden auf 69‰ an. Das jetzt unbehandelte Tier 456 zeigt erst bei der 3. Bestimmung einen geringen Anstieg seiner Vitalgranulierten. An den nächsten beiden Versuchstagen haben wir die Retikulocyten 2 mal täglich und in den folgenden Tagen einmal täglich bestimmt. Bei dem unbehandelten Tier 456 tritt am 2. Versuchstage der Retikulocytenanstieg deutlich in Erscheinung, um dann schnell wieder abzuklingen. Der zentralnervös gereizte Partner zeigt ein allmähliches sich über 5 Tage erstreckendes Absinken seiner Vitalgranulierten auf den Ausgangswert. Die Retikulocytendifferenzierung in diesen Versuchen entspricht den in den Vorversuchen ausführlicher beschriebenen Verhältnissen. Es zeigt sich auch hier wieder, daß zunächst auf den Reiz hin eine Linksverschiebung der Retikulocyten auftritt, die aber bald wieder zu normalen Verhältnissen zurückgeht.

Aus dem Versuch ergibt sich, daß der durch einen zentralnervös ausgelösten Retikulocytenanstieg bei einem von zwei in einer ungestörten Parabiose lebenden Kaninchen auch beim unbehandelten Partner in entsprechender Weise auftritt. Bei beiden Tieren geht

der Anstieg dabei beträchtlich über die im Bereich der physiologischen Grenzen liegenden Bewegungen der Vitalgranulierten hinaus. Der Retikulocytenanstieg bei dem zentralnervös gereizten Tier erfolgt in der uns aus den Vorversuchen bekannten Weise innerhalb der 3.—6. Stunde nach der Reizung. Die gleichsinnige Bewegung bei dem unbehandelten Partner setzt zeitlich etwas später ein, wie dies besonders gut bei dem 2. Teil der Kurve zu ersehen ist. Während beim zentralnervös gereizten Tier der Abfall der Retikulocyten zur Norm innerhalb 5—7 Tage erfolgt, fällt die Retikulocytenzahl des nicht gereizten Tieres schneller wieder auf den Ausgangswert ab und erreicht diesen meist schon am 4. Tage.

In sechs weiteren Versuchen war das Ergebnis im Prinzip das gleiche. Natürlich kommen quantitative Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchen vor, doch insgesamt ergeben unsere positiven Versuche grundsätzlich gleiche Ergebnisse. Mehrere Versuche verliefen negativ. Bei ihnen war wahrscheinlich der zentralnervöse Reiz ungenügend. Die im gereizten Tier auftretenden Retikulocytenschwankungen waren nur so gering, daß wir dies nicht als positiven Versuch ansehen konnten. 2 Paare unserer 8 verheilten Parabiosen entsprachen zur Zeit des beabsichtigten Versuchsbeginns nicht mehr den von uns aufgestellten Forderungen, so daß wir sie von den Versuchen ausschließen mußten.

Versucht man sich die Versuchsergebnisse zu erklären, so findet man, daß dies zu keinem befriedigenden Ergebnis führt, wenn man nur an eine nervöse Beeinflussung der Erfolgsorgane denkt. Außerdem wissen wir nach den Voraussetzungen unserer Versuchsanordnung, daß zwischen beiden Organismen keine nervösen Verbindungen bestehen können. Die gegenseitige Beeinflussung kann ja bei unseren Parabionten nur über den humoralen Weg erfolgen. Eine Bedeutung der kapillären Gefäßanastomosen für diese Beeinflussung scheidet nach den bereits mitgeteilten Befunden aus. Wenn man demnach dem einen Tier einen zentralnervösen Reiz setzt, so müssen die von diesem dem unbehandelten Partner über die Parabiosebrücke zukommenden Reize humoraler Natur sein. Im Erregungsablauf des zentralnervös ausgelösten Reizes bis zur Wirkung im Erfolgsorgan werden wahrscheinlich in dem gereizten Parabionten körpereigene Stoffe frei, die über den Säftestrom in den unbehandelten Partner gelangen und hier übereinstimmende Veränderungen im roten Blutbild hervorrufen. Mit dieser Vorstellung von dem Ablauf der Regulation lassen sich auch die zwischen den einzelnen Versuchspaaren gefundenen quantitativen Abweichungen der Retikulocytenkurven erklären. Diese Abweichungen können dann entweder durch die unterschiedliche individuelle Re-

aktionsweise der Einzeltiere oder durch den verschieden schnellen und großen Säfteaustausch über die Parabiosebrücke bedingt sein. Auch die bei den Versuchen gefundene zeitlich später und in geringerem Maße einsetzende Reaktion bei dem unbehandelten Partner dürfte damit zu erklären sein, daß die Wirkstoffe ja erst in dem gereizten Tier gebildet werden und dann auf den unbehandelten Partner übertreten müssen, um dort ihre Wirkung entfalten zu können. Dies braucht wiederum je nach Größe und Ausdehnung der Anastomose der Leibeshöhlen gewisse Zeit. Es wäre auch durchaus denkbar, daß ein erheblich stärkerer oder auch gar kein Anstieg bei dem unbehandelten Partner auftritt.

Da nach den mitgeteilten Voraussetzungen unserer Versuchsanordnung nervöse Verbindungen, Verbindungen der beiderseitigen Kreislaufsysteme und auch unspezifische Reizbeeinflussung zwischen den beiden Partnern unserer Parabiosen auszuschließen sind, so folgt aus unseren Versuchsergebnissen zum ersten Male zwingend, daß humorale Wirkstoffe in den Ablauf der Regulation des roten Blutbildes eingeschaltet sein müssen.

Zusammenfassung:

Es wurden 64 Kaninchen durch operative Vereinigung der Bauchhöhlen paarweise zur Parabiose gebracht. 8 Paare hiervon konnten nach reaktionsloser Verwachsung 4—8 Wochen am Leben erhalten werden. Die Technik der Operation und das allgemeine Verhalten der Parabiosetiere werden beschrieben. Es wird nachgewiesen, daß zwischen beiden Partnern kein nennenswerter Blutaustausch durch Gefäßanastomosen über die Parabiosebrücke vorhanden ist. Ferner bestehen keine nervösen Verbindungen zwischen den Paarlingen. Im Säftestrom sind solche Tierpaare aber verbunden.

Das rote Blutbild verhält sich nach der Operation bei unseren Parabiosepaaren verschieden. Bei einem Teil der Paare wird es nach kurzer postoperativer Anaemie bald konstant, während der andere Teil der Paare von einer fortschreitenden Anaemie befallen wird.

Löst man bei einem Partner einer unserer Parabiosen einen zentralnervösen Reiz durch Luftfüllung der Hirnventrikel aus, so tritt ein Anstieg seiner vitalgranulierten Erythrocyten auf. Aber auch bei dem mit ihm vereinigten Partner tritt kurz darauf eine gleichsinnige Retikulocytenbewegung auf. Dies ist nach unserer Versuchsanordnung nur so zu erklären, daß in dem gereizten Tier humorale Stoffe entstehen müssen, die durch die Parabiosebrücke auf das 2. Tier übergehen und hier die gleiche Wirkung entfalten

wie beim gereizten Tier. Wahrscheinlich sind diese humoral wirksamen Stoffe physiologischerweise bei der Regulation des roten Blutbildes zwischen dem zentralnervösen Reiz und den blutbildenden Organen eingeschaltet.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Hoff durchgeführt, dem ich für die freundliche Überlassung des Themas herzlichst danke. Herrn Dr. Beer, der mir bei allen operativen Eingriffen half und mit dem ein Teil der Versuche gemeinsam unternommen wurde, danke ich auch an dieser Stelle nochmals herzlichst für seine Mitarbeit.

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, daß ich die vorstehende Arbeit selbständig abgefaßt und außer der angegebenen Literatur keine anderen Hilfsmittel benützt habe.

Literatur.

Beer: Klin. Wschr. **40** (1938), Z. exp. Med. **105**, H. 1 u. 2.
Demel: Fol. haemat. 1907.
Ginzberg und Heilmeyer: Arch. f. Psych. Bd. **97** (1932).
Guillan, Georges, P. Lechelle, Raymond Garcin: C. r. Soc. Paris **106** (1931).
Günther: Dtsch. Arch. klin. Med. **165** (1929).
Hayashida: J. Kumamoto Medic. Soc. **11**. 1295, 1433, 1463 (1935); **12**. 135, 359, 1267, 1513, 2111 (1936).
Hoff: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **40** (1928), Erg. inn. Med. **33** (1928); Erg. inn. Med. **46** (1934).
Istomanowa: Z. exp. Med. **52** (1926).
Istomanowa und Chudoreschewa: Z. exp. Med. **71** (1930).
Lichtwitz: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **42** (1930), **43** (1931).
Morawitz: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **43** (1931).
Nasu: J. Kumamoto Med. Soc. **12**. 325, 1875, 1905, 1923, 2087 (1936).
Randheart und Schlesinger: Z. exp. Med. **80**, H. 1 u. 2.
Rosenow: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **40** (1928), **43** (1931). — Z. exp. Med. **64** (1929).
Sauerbruch und Heyde: Münch. med. Wschr. 1908, H. 4.
Schilling: Virch. Arch. **234** (1921).

Lebenslauf.

Am 27. Juli 1910 wurde ich in Eisenberg i. Thür. als Sohn des Kapseldrehers Leonhard Böhm geboren. Nach 4 jähriger Grundschulzeit besuchte ich ab 1921 bis 1930 das Reformrealgymnasium in Eisenberg i. Thür. Ostern 1930 erhielt ich das Zeugnis der Reife. Vom April 1930 bis März 1932 lernte ich in der Hof- und Stadtapotheke Eisenberg i. Thür. als Apothekerpraktikant und bestand im März 1932 das pharmazeutische Vorexamen. Hierauf arbeitete ich bis Ostern 1934 weiterhin in Apotheken als Apothekerassistent. Mit dem Sommer-Semester 1934 begann ich in Rostock das Studium der Medizin. Das Winter-Semester 1935/36 studierte ich in Königsberg. Seit Sommer-Semester 1936 bin ich in Würzburg immatrikuliert und habe mich zum 1. April 1939 zum medizinischen Staatsexamen gemeldet.

Kurt Böhm.